

P A T E N T COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SAEKI, Norio
9th floor, Taka-ai Building
15-2, Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0027
JAPON

RECEIVED

01.1.22 S

JA905233

SAEKI & PARTNERS

Date of mailing (day/month/year) 16 January 2001 (16.01.01)	
Applicant's or agent's file reference JA905233	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/07992	International filing date (day/month/year) 13 November 2000 (13.11.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 16 November 1999 (16.11.99)
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION et al	

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
16 Nove 1999 (16.11.99)	11/326007	JP	03 Janu 2001 (03.01.01)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer Somsak Thiphrakesone Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---



PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 JA905233	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/07992	国際出願日 (日.月.年) 13.11.00	優先日 (日.月.年) 16.11.99
出願人(氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12Q1/68, C12Q1/02, C12Q1/04, C12N15/09, G01N33/56
6, G01N33/53, G01N33/15//C07D487/04, A61K31/4178, A
61P35/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12Q1/00~1/04, C12N15/00~15/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)
REGISTRY (STN)
BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	WO, 2000/58312, A1 (KAGAKU GIJYUTSU SHINKO JIG YODAN) 05. 10月. 2000 (05. 10. 00) & JP, 2 000-281679, A	1-21
A	社団法人日本化学会発行「日本化学会第74春季年会講演予稿集I I」(1998年3月14日) 3G309	1-21

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05. 02. 01

国際調査報告の発送日

13.02.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 恵理子

4N

8114

電話番号 03-3581-1101 内線 3448



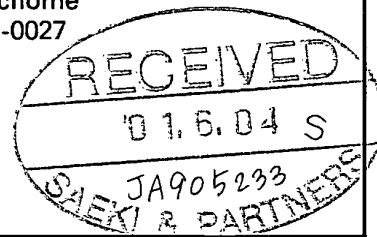
PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SAEKI, Norio
9th floor, Taka-ai Building
15-2, Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0027
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 25 May 2001 (25.05.01)		
Applicant's or agent's file reference JA905233		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP00/07992	International filing date (day/month/year) 13 November 2000 (13.11.00)	
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

EP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 25 May 2001 (25.05.01) under No. WO 01/36677

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38



特許協力条約



発信人 日本国特許庁 (受理官庁)

出願人代理人

佐伯 憲生

P C T

殿

あて名

〒103-0027

東京都中央区日本橋3丁目15番2号 高愛ビル9階 たくみ特許事務所

国際出願番号及び 国際出願日の通知書

(法施行規則第22条、第23条)
〔PCT規則20.5(c)〕

PCT/JP00/07992

RO105

発送日 (日. 月. 年)

21. 11. 00

出願人又は代理人
の書類記号

JA905233

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP00/07992

国際出願日 (日. 月. 年)

13. 11. 00

優先日 (日. 月. 年)

16. 11. 99

出願人 (氏名又は名称)

科学技術振興事業団

1. この国際出願は、上記の国際出願番号及び国際出願日が付与されたことを通知する。

記録原本は、21 日 11 月 00 年 に国際事務局に送付した。

注 意

- 国際出願番号は、特許協力条約を表示する「PCT」の文字、斜線、受理官庁を表示する2文字コード (日本の場合JP)、西暦年の最後から2桁の数字、斜線、及び5桁の数字からなっています。
- 国際出願日は、「特許協力条約に基づく国際出願に関する法律」第4条第1項の要件を満たした国際出願に付与されます。
- あて名等を変更したときは、速やかにあて名の変更届等を提出して下さい。
- 電子計算機による漢字処理のため、漢字の一部を当用漢字、又は、仮名に置き換えて表現してある場合もありますので御了承下さい。
- この通知に記載された出願人のあて名、氏名 (名称) に誤りがあるときは申出により訂正します。
- 国際事務局は、受理官庁から記録原本を受領した場合には、出願人にその旨を速やかに通知 (様式PCT/IB/301) する。記録原本を優先日から14箇月が満了しても受領していないときは、国際事務局は出願人にその旨を通知する。〔PCT規則22.1(c)〕

名称及びあて名

日本国特許庁 (RO/JP)

郵便番号 100-8915 TEL 03-3592-1308

日本国東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

様式PCT/RO/105 (1998年7月)

権限のある職員

特 許 庁 長 官



特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際調査機関）

出願人代理人

佐伯 憲生

P C T



殿

あて名

〒103-0027

東京都中央区日本橋3丁目15番2号 高愛ビル9階 たくみ特許事務所

調査用写しの受理通知書

（法施行規則第39条）
〔PCT規則25.1〕

PCT/JP00/07992

SA202

発送日（日．月．年）

21. 11. 00

出願人又は代理人
の書類記号

JA905233

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP00/07992

国際出願日（日．月．年）

13. 11. 00

優先日（日．月．年）

16. 11. 99

出願人（氏名又は名称）

科学技術振興事業団

1. 国際調査機関と受理官庁が同一の機関でない場合、

国際出願の調査用写しを国際調査機関が下記の日に受理したので通知する。

国際調査機関と受理官庁が同一の機関である場合、

国際出願の調査用写しを下記の日に受理したので通知する。

21 日 11 月 00 年（受理の日）

2. ☐ 調査用写しには、コンピューター読取りが可能な形式によるヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が添付されている。

3. 国際調査報告の作成期間

国際調査報告の作成期間は、上記受理の日から3箇月の期間又は優先日から9箇月の期間のいずれか遅く満了する期間である。

4. この通知書の写しは、国際事務局及び上記1の第1文が適用される場合には受理官庁に送付した。

名称及びあて名

日本国特許庁（ISA/JP）

郵便番号 100-8915 TEL03-3592-1308

日本国東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

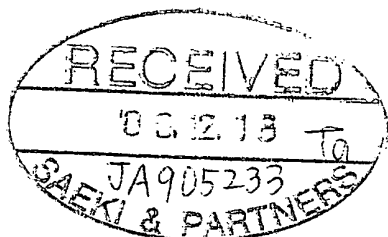
様式PCT/ISA/202（1998年7月）

権限のある職員

特 許 庁 長 官



PATENT COOPERATION TREATY



PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SAEKI, Norio
9th floor, Taka-ai Building
15-2, Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0027
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 04 December 2000 (04.12.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference JA905233	International application No. PCT/JP00/07992

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION (for all designated States except US)
SUGIYAMA, Hiroshi et al (for US)

International filing date : 13 November 2000 (13.11.00)
Priority date(s) claimed : 16 November 1999 (16.11.99)
Date of receipt of the record copy
by the International Bureau : 28 November 2000 (28.11.00)
List of designated Offices :

EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR
National : US

ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase
☒ confirmation of precautionary designations
☒ requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer: Shinji IGARASHI
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38



INFORMATION ON TIME LIMITS FOR ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the "national phase" must be entered before each of the designated Offices indicated in the Notification of Receipt of Record Copy (Form PCT/IB/301) by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by the applicable national laws.

The time limit for performing these procedural acts is **20 MONTHS** from the priority date or, for those designated States which the applicant elects in a demand for international preliminary examination or in a later election, **30 MONTHS** from the priority date, provided that the election is made before the expiration of 19 months from the priority date. Some designated (or elected) Offices have fixed time limits which expire even later than 20 or 30 months from the priority date. In other Offices an extension of time or grace period, in some cases upon payment of an additional fee, is available.

In addition to these procedural acts, the applicant may also have to comply with other special requirements applicable in certain Offices. It is **the applicant's responsibility** to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most designated Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

For detailed information about the procedural acts to be performed to enter the national phase before each designated Office, the applicable time limits and possible extensions of time or grace periods, and any other requirements, see the relevant Chapters of Volume II of the PCT Applicant's Guide. Information about the requirements for filing a demand for international preliminary examination is set out in Chapter IX of Volume I of the PCT Applicant's Guide.

GR and ES became bound by PCT Chapter II on 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, and may, therefore, be elected in a demand or a later election filed on or after 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, regardless of the filing date of the international application. (See second paragraph above.)

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

CONFIRMATION OF PRECAUTIONARY DESIGNATIONS

This notification lists only specific designations made under Rule 4.9(a) in the request. It is important to check that these designations are correct. Errors in designations can be corrected where precautionary designations have been made under Rule 4.9(b). The applicant is hereby reminded that any precautionary designations may be confirmed according to Rule 4.9(c) before the expiration of 15 months from the priority date. If it is not confirmed, it will automatically be regarded as withdrawn by the applicant. There will be no reminder and no invitation. Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying the designated State concerned (with an indication of the kind of protection or treatment desired) and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before that date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau or if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit is the filing date of the earliest application whose priority is claimed.



特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁 (国際調査機関)



出願人代理人 佐伯 憲生 殿 あて名 〒 103-0027 東京都中央区日本橋三丁目15番2号 高愛ビル 9階

PCT

国際調査報告又は国際調査報告を作成しない旨
の決定の送付の通知書

(法施行規則第41条)
(PCT規則44.1)

出願人又は代理人 の書類記号 JA905233	発送日 (日.月.年) 13.02.01
国際出願番号 PCT/JP00/07992	今後の手続きについては、下記1及び4を参照。
出願人 (氏名又は名称) 科学技術振興事業団	国際出願日 (日.月.年) 13.11.00

1. ☒ 国際調査報告が作成されたこと、及びこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。
PCT19条の規定に基づく補正書及び説明書の提出

出願人は、国際出願の請求の範囲を補正することができる (PCT規則46参照)。

いつ 補正書の提出期間は、通常国際調査報告の送付の日から2月である。

詳細については添付用紙の備考を参照すること。

どこへ 直接次の場所へ

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

詳細な手続きについては、添付用紙の備考を参照すること。

2. ☐ 国際調査報告が作成されないこと、及び法第8条第2項 (PCT17条(2)(a)) の規定による国際調査報告を作成しない旨の決定をこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。
3. ☐ 法施行規則第44条 (PCT規則40.2) に規定する追加手数料の納付に対する異議の申立てに関して、出願人に下記の点を通知する。
- ☐ 異議の申立てと当該異議についての決定を、その異議の申立てと当該異議についての決定の両方を指定官庁へ送付することを求める出願人の請求とともに、国際事務局へ送付した。
- ☐ 当該異議についての決定は、まだ行われていない。決定されしだい出願人に通知する。

4. 今後の手続： 出願人は次の点に注意すること。

優先日から18月経過後、国際出願は国際事務局によりすみやかに国際公開される。出願人が公開の延期を望むときは、国際出願又は優先権の主張の取下げの通知がPCT規則90の2.1及び90の2.3にそれぞれ規定されているように、国際公開の事務的な準備が完了する前に国際事務局に到達しなければならない。

出願人が優先日から30月まで (官庁によってはもっと遅く) 国内段階の開始を延期することを望むときは、優先日から19月以内に、国際予備審査の請求書が提出されなければならない。

国際予備審査の請求書若しくは、後にする選択により優先日から19箇月以内に選択しなかった又は第II章に拘束されないため選択できなかったすべての指定官庁に対しては優先日から20月以内に、国内段階の開始のための所定手続を取らなければならない。

名称及びあて名 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員 特 許 庁 長 官 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4N 8114
---	---	---------

様式PCT/ISA/220 (1998年7月)

(添付用紙を参照)



注 意

1. 国際調査報告の発送日から起算する条約第19条(1)及び規則46.1に従う国際事務局への補正期間に注意してください。
2. 条約22条(2)に規定する期間に注意してください。

3. 文献の写しの請求について

国際調査報告に記載した文献の複写

特許庁にこれらの引用文献の写しを請求することもできますが、日本特許情報機構でもこれらの引用文献の複写物を販売しています。日本特許情報機構に引用文献の複写物を請求する場合は下記の点に注意してください。

〔申込方法〕

- (1) 特許(実用新案・意匠)公報については、下記の点を明記してください。

○特許・実用新案及び意匠の種類

○出願公告又は出願公開の年次及び番号(又は特許番号、登録番号)

○必要部数

- (2) 公報以外の文献の場合は、下記の点に注意してください。

○国際調査報告の写しを添付してください(返却します)。

〔申込み及び照会先〕

〒135 東京都江東区東陽4-1-7 佐藤ダイヤビル
財団法人 日本特許情報機構 サービス課
TEL 03-5690-3900

注意 特許庁に対して文献の写しの請求をすることができる期間は、国際出願日から7年です。



様式PCT/ISA/220の備考

この備考は、PCT 19条の規定に基づく補正書の提出に関する基本的な指示を与えるためのものである。この備考は特許協力条約並びにこの条約に基づく規則及び実施細則の規定に基づいている。この備考とそれらの規定とが相違する場合には、後者が適用される。詳細な情報については、WIPOの出版物であるPCT出願人の手引も参照すること。

PCT 19条の規定に基づく補正書の提出に関する指示

出願人は、国際調査報告を受領した後、国際出願の請求の範囲を補正する機会が一回ある。しかし、国際出願のすべての部分（請求の範囲、明細書及び図面）が、国際予備審査の手續においても補正できるもので、例えば出願人が仮保護のために補正書を公開することを希望する場合又は国際公開前に請求の範囲を補正する別の理由がある場合を除き、通常PCT 19条の規定に基づく補正書を提出する必要はないことを強調しておく。さらに、仮保護は一部の国のみで与えられるだけであることも強調しておく。

補正の対象となるもの

PCT 19条の規定により請求の範囲のみ補正することができる。

国際段階においてPCT 34条の規定に基づく国際予備審査の手續において請求の範囲を（更に）補正することができる。

明細書及び図面は、PCT 34条の規定に基づく国際予備審査の手續においてのみ補正することができる。

国内段階に移行する際、PCT 28条（又はPCT 41条）の規定により、国際出願のすべての部分を補正することができる。

いつ

国際調査報告の送付の日から2月又は優先日から16月の内どちらか遅く満了するほうの期間内。しかし、その期間の満了後であっても国際公開の技術的な準備の完了前に国際事務局が補正を受領した場合には、その補正書は、期間内に受理されたものとみなすことを強調しておく（PCT規則46.1）。

補正書を提出すべきところ

補正書は、国際事務局のみに提出でき、受理官庁又は国際調査機関には提出してはいけない（PCT規則46.2）。国際予備審査の請求書を提出した／する場合については、以下を参照すること。

どのように

1以上の請求の範囲の削除、1以上の新たな請求の範囲の追加、又は1以上の請求の範囲の記載の補正による。

差替え用紙は、補正の結果、出願当初の用紙と相違する請求の範囲の各用紙毎に提出する。

差替え用紙に記載されているすべての請求の範囲には、アラビア数字を付さなければならない。請求の範囲を削除する場合、その他の請求の範囲の番号を付け直す必要はない。請求の範囲の番号を付け直す場合には、連続番号で付け直さなければならない（PCT実施細則第205号(b)）。

補正は国際公開の言語で行う。

補正書にどのような書類を添付しなければならないか

書簡（PCT実施細則第205号(b)）

補正書には書簡を添付しなければならない。

書簡は国際出願及び補正された請求の範囲とともに公開されることはない。これを「PCT 19条(1)に規定する説明書」と混同してはならない（「PCT 19条(1)に規定する説明書」については、以下を参照）。

書簡は、英語又は仏語を選択しなければならない。ただし、国際出願の言語が英語の場合、書簡は英語で、仏語の場合、書簡は仏語で記載しなければならない。

書簡には、出願時の請求の範囲と補正された請求の範囲との相違について表示しなければならない。特に、国際出願に記載した各請求の範囲との関連で次の表示（2以上の請求の範囲についての同一の表示する場合は、まとめることができる。）をしなければならない。

- (i) この請求の範囲は変更しない。
- (ii) この請求の範囲は削除する。
- (iii) この請求の範囲は追加である。
- (iv) この請求の範囲は出願時の1以上の請求の範囲と差し替える。
- (v) この請求の範囲は出願時の請求の範囲の分割の結果である。



次に、添付する書簡中での、補正についての説明の例を示す。

1. [請求の範囲の一部の補正によって請求の範囲の項数が48から51になった場合] :
“請求の範囲1-29、31、32、34、35、37-48項は、同じ番号のもとに補正された請求の範囲と置き換えられた。請求の範囲30、33及び36項は変更なし。新たに請求の範囲49-51項が追加された。”
2. [請求の範囲の全部の補正によって請求の範囲の項数が15から11になった場合] :
“請求の範囲1-15項は、補正された請求の範囲1-11項に置き換えられた。”
3. [原請求の範囲の項数が14で、補正が一部の請求の範囲の削除と新たな請求の範囲の追加を含む場合] :
“請求の範囲1-6及び14項は変更なし。請求の範囲7-13は削除。新たに請求の範囲15、16及び17項を追加。”又は
“請求の範囲7-13は削除。新たに請求の範囲15、16及び17項を追加。その他の全ての請求の範囲は変更なし。”
4. [各種の補正がある場合] :
“請求の範囲1-10項は変更なし。請求の範囲11-13、18及び19項は削除。請求の範囲14、15及び16項は補正された請求の範囲14項に置き換えられた。請求の範囲17項は補正された請求の範囲15、16及び17項に分割された。新たに請求の範囲20及び21項が追加された。”

“PCT19条(1)の規定に基づく説明書”(PCT規則46.4)

補正書には、補正並びにその補正が明細書及び図面に与える影響についての説明書を提出することができる(明細書及び図面はPCT19条(1)の規定に基づいては補正できない)。

説明書は、国際出願及び補正された請求の範囲とともに公開される。

説明書は、国際公開の言語で作成しなければならない。

説明書は、簡潔でなければならない、英語の場合又は英語に翻訳した場合に500語を越えてはならない。

説明書は、出願時の請求の範囲と補正された請求の範囲との相違を示す書簡と混同してはならない。説明書を、その書簡に代えることはできない。説明書は別紙で提出しなければならない、見出しを付すものとし、その見出しは“PCT19条(1)の規定に基づく説明書”の語句を用いることが望ましい。

説明書には、国際調査報告又は国際調査報告に列記された文献との関連性に関して、これらを誹謗する意見を記載してはならない。国際調査報告に列記された特定の請求の範囲に関連する文献についての言及は、当該請求の範囲の補正に関してのみ行うことができる。

国際予備審査の請求書が提出されている場合

PCT19条の規定に基づく補正書及び添付する説明書の提出の時に国際予備審査の請求書が既に提出されている場合には、出願人は、補正書(及び説明書)を国際事務局に提出すると同時にその写し及び必要な場合、その翻訳文を国際予備審査機関にも提出することが望ましい(PCT規則55.3(a)、62.2の第1文を参照)。詳細は国際予備審査請求書(PCT/ISPEA/401)の注意書参照。

国内段階に移行するための国際出願の翻訳に関して

国内段階に移行する際、PCT19条の規定に基づいて補正された請求の範囲の翻訳を出願時の請求の範囲の翻訳の代わりに又は追加して、指定官庁/選択官庁に提出しなければならないこともあるので、出願人は注意されたい。

指定官庁/選択官庁の詳細な要求については、PCT出願人の手引きの第II巻を参照。



P C T

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 JA905233	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/07992	国際出願日 (日.月.年) 13.11.00	優先日 (日.月.年) 16.11.99
出願人(氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

- a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。
- b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
 第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1⁷ C12Q1/68, C12Q1/02, C12Q1/04, C12N15/09, G01N33/56
6, G01N33/53, G01N33/15//C07D487/04, A61K31/4178, A
61P35/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1⁷ C12Q1/00~1/04, C12N15/00~15/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	WO, 2000/58312, A1 (KAGAKU GIJYUTSU SHINKO JIG YODAN) 05. 10月. 2000 (05. 10. 00) & JP, 2 000-281679, A	1-21
A	社団法人日本化学会発行「日本化学会第74春季年会講演予稿集I I」(1998年3月14日) 3G309	1-21

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05. 02. 01

国際調査報告の発送日

13.02.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 恵理子

4N

8114

印

電話番号 03-3581-1101 内線 3448



特許協力条約に基づく国際出願願書

1/4

原本(出願用) - 印刷日時 2000年11月09日 (09.11.2000) 木曜日 11時11分04秒

JA905233

0	受理官庁記入欄	
0-1	国際出願番号	
0-2	国際出願日	
0-3	(受付印)	
0-4	様式-PCT/RO/101 この特許協力条約に基づく国際出願願書は、 右記によって作成された。	PCT-EASY Version 2.90 (updated 15.10.1999)
0-5	申立て 出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。	
0-6	出願人によって指定された受理官庁	日本国特許庁 (RO/JP)
0-7	出願人又は代理人の書類記号	JA905233
I	発明の名称	生理活性をもつピロールイミダゾール誘導体のスクリーニング法の開発
II	出願人	出願人である (applicant only)
II-1	この欄に記載した者は	米国を除くすべての指定国 (all designated States except US)
II-2	右の指定国についての出願人である。	科学技術振興事業団
II-4ja	名称	Japan Science and Technology Corporation
II-4en	Name	332-0012 日本国
II-5ja	あて名:	埼玉県 川口市
II-5en	Address:	本町四丁目1番8号 1-8, Honcho 4-chome Kawaguchi-shi, Saitama 332-0012 Japan
II-6	国籍 (国名)	日本国 JP
II-7	住所 (国名)	日本国 JP
III-1	その他の出願人又は発明者	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-1-1	この欄に記載した者は	米国のみ (US only)
III-1-2	右の指定国についての出願人である。	杉山 弘
III-1-4ja	氏名(姓名)	SUGIYAMA, Hiroshi
III-1-4en	Name (LAST, First)	102-0081 日本国
III-1-5ja	あて名:	東京都 千代田区
III-1-5en	Address:	四番町8-611 8-611, Yonban-cho Chiyoda-ku, Tokyo 102-0081 Japan
III-1-6	国籍 (国名)	日本国 JP
III-1-7	住所 (国名)	日本国 JP



III-1 III-2-i	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-2-2	右の指定国についての出願人である。	米国のみ (US only)
III-2-4ja III-2-4en III-2-5ja	氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	齋藤 烈 SAITO, Isao 607-8242 日本国 京都府 京都市 山科区勤修寺柴山 1-2 1
III-2-5en	Address:	1-21, Shibayama, Kanshuji, Yamashina-ku Kyoto-shi, Kyoto 607-8242 Japan
III-2-6	国籍(国名)	日本国 JP
III-2-7	住所(国名)	日本国 JP
III-3 III-3-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-3-2	右の指定国についての出願人である。	米国のみ (US only)
III-3-4ja III-3-4en III-3-5ja	氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	飯田 博一 IIDA, Hirokazu 112-0002 日本国 東京都 文京区 小石川 5-3 1-5 ビラしんび 303
III-3-5en	Address: Birashimbi 303,	5-31-5-303, Koishikawa Bunkyo-ku, Tokyo 112-0002 Japan
III-3-6	国籍(国名)	日本国 JP
III-3-7	住所(国名)	日本国 JP
IV-1 IV-1-1ja IV-1-1en IV-1-2ja	代理人又は共通の代表者、通知のあて名 下記の者は国際機関において右記のごとく出願人のために行動する。 氏名(姓名) Name (LAST, First) あて名:	代理人 (agent) 佐伯 憲生 SAEKI, Norio 103-0027 日本国 東京都 中央区 日本橋三丁目 15 番 2 号 高愛ビル 9 階
IV-1-2en	Address:	9th floor, Taka-ai Building 15-2, Nihonbashi 3-chome Chuo-ku, Tokyo 103-0027 Japan
IV-1-3	電話番号	03-5205-2521
IV-1-4	ファクシミリ番号	03-5205-2522
V V-1	国の指定 広域特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国 である他の国



特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2000年11月09日 (09.11.2000) 木曜日 11時11分04秒

JA905233

V-1	国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを 求める場合には括弧内に記載す る。)	US
V-5	指定の確認の宣言 出願人は、上記の指定に加えて 、規則4.9(b)の規定に基づき、 特許協力条約のもとで認められ る他の全ての国の指定を行う。 ただし、V-6欄に示した国の指 定を除く。出願人は、これらの 追加される指定が確認を条件と していること、並びに優先日から 15月が経過する前にその確認 がなされない指定は、この期間 の経過時に、出願人によって取 り下げられたものとみなされる ことを宣言する。	
V-6	指定の確認から除かれる国	なし (NONE)
VI-1	先の国内出願に基づく優先権 主張	
VI-1-1	先の出願日	1999年11月16日 (16.11.1999)
VI-1-2	先の出願番号	特願平11-326007
VI-1-3	国名	日本国 JP
VI-2	優先権 証明書送付の請求 上記の先の出願のうち、右記の 番号のものについては、出願書 類の認証謄本を作成し国際事務 局へ送付することを、受理官庁 に対して請求している。	VI-1
VII-1	特定された国際調査機関(ISA)	日本国特許庁 (ISA/JP)
VIII	照合欄	用紙の枚数
VIII-1	願書	4
VIII-2	明細書	22
VIII-3	請求の範囲	4
VIII-4	要約	1
VIII-5	図面	5
VIII-7	合計	36
VIII-8	添付書類	添付
VIII-8	手数料計算用紙	✓
VIII-9	別個の記名押印された委任状	✓
VIII-10	包括委任状の写し	✓
VIII-16	PCT-EASYディスク	-
VIII-17	その他	納付する手数料に相当する 特許印紙を貼付した書 面
VIII-17	その他	国際事務局の口座への振 込を証明する書面
VIII-18	要約書とともに提示する図の 番号	NONE
VIII-19	国際出願の使用言語名:	日本語 (Japanese)
IX-1	提出者の記名押印	
IX-1-1	氏名(姓名)	佐伯 憲生





特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2000年11月09日 (09.11.2000) 木曜日 11時11分04秒

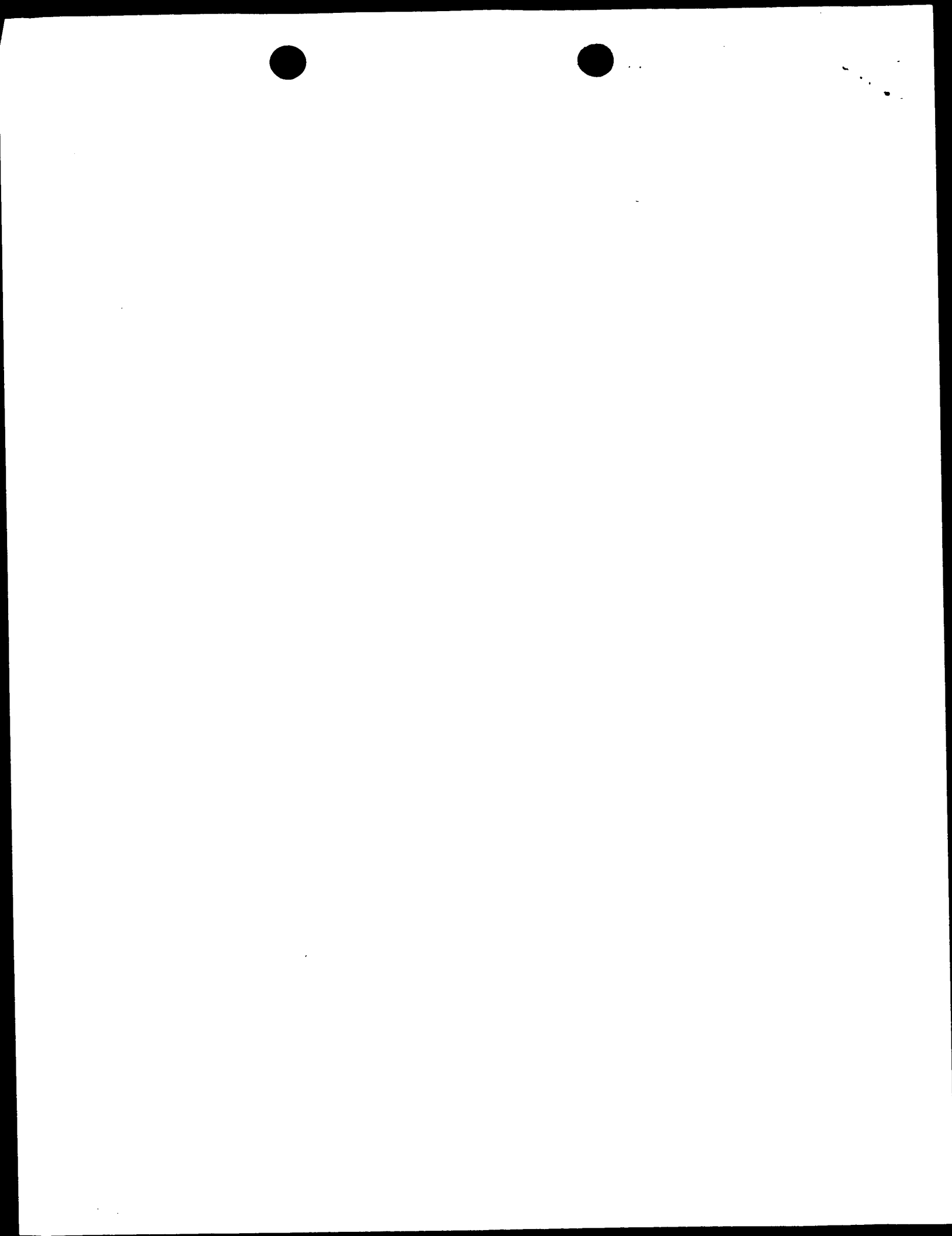
JA905233

受理官庁記入欄

10-1	国際出願として提出された書類の実際の受理の日	
10-2	図面 :	
10-2-1	受理された	
10-2-2	不足図面がある	
10-3	国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であってその後期間内に提出されたものの実際の受理の日(訂正日)	
10-4	特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
10-5	出願人により特定された国際調査機関	ISA/JP
10-6	調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

国際事務局記入欄

11-1	記録原本の受理の日	
------	-----------	--



PCT手数料計算用紙(願書付属書)

1/2

原本(出願用) - 印刷日時 2000年11月09日 (09.11.2000) 木曜日 11時11分04秒

JA905233

[この用紙は、国際出願の一部を構成せず、国際出願の用紙の枚数に算入しない]

0	0-1	受理官庁記入欄 国際出願番号.	
0-2		受理官庁の日付印	
0-4	0-4-1	様式-PCT/R0/101 (付属書) このPCT手数料計算用紙は、 右記によって作成された。	PCT-EASY Version 2.90 (updated 15.10.1999)
0-9		出願人又は代理人の書類記号	JA905233
1		出願人	科学技術振興事業団
11		所定の手数料の計算	金額/係数 小計 (JPY)
12-1		送付手数料 T	⇒ 18,000
12-2		調査手数料 S	⇒ 72,000
12-3		国際手数料	
		基本手数料	
		(最初の30枚まで) b1	40,700
12-4		30枚を越える用紙の枚数	6
12-5		用紙1枚の手数料 (X)	940
12-6		合計の手数料 b2	5,640
12-7		b1 + b2 = B	46,340
12-8		指定手数料	
		国際出願に含まれる指定国 数	2
12-9		支払うべき指定手数料の数 (上限は10)	2
12-10		1指定当たりの手数料 (X)	8,800
12-11		合計の指定手数料 D	17,600
12-12		PCT-EASYによる料金の 減額 R	-12,500
12-13		国際手数料の合計 (B+D-R) I	⇒ 51,440
12-14		優先権 証明書請求手数料	
		優先権 証明書を請求した 数	1
12-15		1 優先権 証明書当た りの手数料 (X)	1,400
12-16		優先権 証明書請求手数料 の合計 P	⇒ 1,400
12-17		納付するべき手数料の合計 (T+S+I+P)	⇒ 142,840
12-18		支払方法	送付手数料: 特許印紙 調査手数料: 特許印紙 国際手数料: 銀行口座への振込み 優先権 証明書請求手数料: 特許印紙

EASYによるチェック結果と出願人による言及

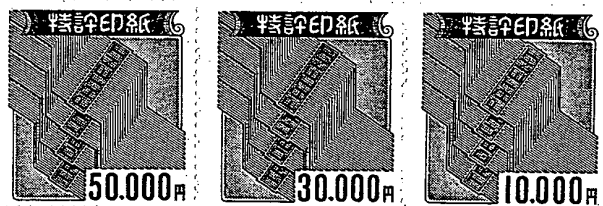
13-1-1	出願人による言及 注釈	1 0 2 6 6 弁理士 佐伯 憲生
--------	----------------	---------------------



12

13-1-1	EASYによるチェック結果 願書	Green? 発明の名称はできるだけ大文字で入力してください。
13-1-2	EASYによるチェック結果 指定国	Green? より多くの指定が可能です。確認してください。
13-1-3	EASYによるチェック結果 氏名(名称)	Green? 出願人 1: 英文表記での名称はできるだけ大文字で記入してください。
		Green? 出願人 1: 電話番号が記入されていません。
		Green? 出願人 1: ファクシミリ番号が記入されていません。
13-1-4	EASYによるチェック結果 内訳	Green? 添付書類"包括委任状の写し"の包括委任状番号が記入されていません。
13-1-9	EASYによるチェック結果 注釈	Yellow! 願書に表示しなければならない通常の項目はすべて他のPCT-EASYの機能で入力することができます。言及を用いた表示の有効性について確認してください。
13-1-10	EASYによるチェック結果 受理官庁/国際事務局記入欄	Green? この願書を作成したPCT-EASYは英語版ないし西欧言語版以外のWindows上で動作しています。ASCII文字以外の文字について、願書と電子データを注意して比較してください。





送付手数料・調査手数料 90,000円



ご利用明細

ご来店いただき
ありがとうございます。



東京三菱銀行

年月日	取扱店番	お取引内容	
121110	0022	お振込	
受付通番	銀行番号	支店番号	口座番号
3516	0022	0632671	
時刻	税込手数料	お取引金額	
09.50	¥210★	¥51,440★	
お取扱いでき ない場合		残高	
お取扱金額 *****			
ご案内 *****			
お振込先は 東京三菱銀行 内幸町支店 普通 0473286 WIPO-PCT GENEVA様 ご依頼人は タクミツキヨシムシヨ サエキ ノリ オ様 電話 0352052521			



基本手数料	46,340円
指定手数料	17,600円
PCT-EASYによる料金の減額	-12,500円
合 計	51,440円



包 括 委 任 状

平成 12 年 8 月 28 日

私儀 弁理士 佐伯 憲生 氏 を代理人と定めて、下記の権限を委任します。

1. 特許協力条約に基づくすべての国際出願に関する一切の件
2. 上記出願及び指定国の指定を取下げる件
3. 上記出願についての国際予備審査の請求に関する一切の件並びに請求及び選択国の選択を取下げる件
4. 上記事項に関する復代理人の選任及び解任

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

科学技術振興事業団

理事長 川 崎 雅 弘





委任状

2000年11月2日

私儀

弁理士 (10266) 佐伯憲生氏

を以て代理人と定め、下記の権限を委任します。

1. 特許協力条約に基づく国際出願

「生理活性をもつピロールイミダゾール誘導体のスクリーニング法の開発」
に関する一切の件

2. 上記出願及び指定国の指定を取り下げる件



3. 上記出願についての国際予備審査の請求に関する一切の件並びに請求及び
選択国の選択を取り下げる件

あて名 東京都千代田区四番町8-611

氏名 杉山 弘



あて名 京都府京都市山科区勸修寺柴山1-21

氏名 齋藤 烈



あて名 東京都文京区小石川5-31-5 ビラしんび303

氏名 飯田 博一





優先権証明願 (P C T)



特許庁長官 殿

1. 出願番号 平成11年特許願第326007号

2. 請求人

識別番号 100102668

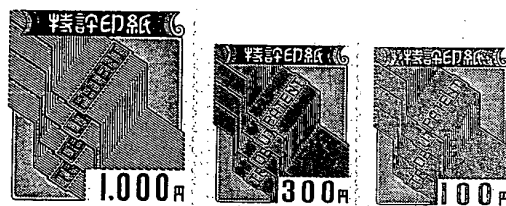
住 所 〒103-0027 日本国東京都中央区日本橋三丁目
15番2号
高愛ビル 9階

氏 名 弁理士 佐伯憲生



電話番号 03(5205)2521

3. 出願国名 P C T



(1,400円)



100

100

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年 5 月 25 日 (25.05.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/36677 A1

(51) 国際特許分類: C12Q 1/68, 1/02,
1/04, C12N 15/09, G01N 33/566, 33/53, 33/15 // C07D
487/04, A61K 31/4178, A61P 35/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/07992

(22) 国際出願日: 2000 年 11 月 13 日 (13.11.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平 11/326007
1999 年 11 月 16 日 (16.11.1999) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術
振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY
CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本
町四丁目 1 番 8 号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 杉山 弘

(SUGIYAMA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒102-0081 東京都千代
田区四番町 8-611 Tokyo (JP). 齋藤 烈 (SAITO, Isao)
[JP/JP]; 〒607-8242 京都府京都市山科区勤修寺柴山
1-21 Kyoto (JP). 飯田博一 (IIDA, Hirokazu) [JP/JP]; 〒
112-0002 東京都文京区小石川 5-31-5 ビラしんび 303
Tokyo (JP).

(74) 代理人: 佐伯憲生 (SAEKI, Norio); 〒103-0027 東京都
中央区日本橋三丁目 15 番 2 号 高愛ビル 9 階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: DEVELOPMENT OF METHOD FOR SCREENING PHYSIOLOGICALLY ACTIVE PYRROLE IMIDAZOLE
DERIVATIVE

(54) 発明の名称: 生理活性をもつピロールイミダゾール誘導体のスクリーニング法の開発

(57) Abstract: A method for screening the effect of a segment A (chemical species A) on a substance (for example, a cell) containing DNA or RNA by using artificial chemical species. Namely, a method of detecting or identifying the function of a chemical species A on a substance containing DNA or RNA by using one or more chemical species represented by the following general formula (I) which are capable of recognizing a DNA base sequence; a kit therefor; and a plate to be used therein: B-L-A (I) wherein B represents a chemical structure containing a non-natural base capable of recognizing a DNA base sequence; A represents a chemical structure having an interaction with DNA; and L represents a linker whereby the chemical structures A and B can be linked together.

[続葉有]

WO 01/36677 A1



(57) 要約:

本発明は、これらの人工の化学種を用いて細胞などのDNA又はRNAを含有する物質に対するセグメントA（化学種A）の作用をスクリーニングする方法を提供するものである。

本発明は、一般式（I）



（式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。）

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種の1種又は2種以上を用いて、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定する方法、そのためのキット、及びそれに用いるプレートに関する。

明 細 書

生理活性をもつピロールイミダゾール誘導体のスクリーニング法の開発

技術分野

本発明は、天然のDNA又はRNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を有する化学種を用いて、細胞などのDNA又はRNAを含有する物質に対する作用を検出または同定する方法、そのためのキット、及びそれに用いるプレートに関する。

背景技術

ヒトゲノムプロジェクトにより我々の「生命の設計図」である全遺伝子の塩基配列が数年内に解明されようとしている。この設計図に傷があったり、後天的に傷がはいると、病気や老化を引き起こすことが知られている。ヒトゲノムプロジェクトの進展により癌を含む多くの疾病はDNAレベルで理解されるようになり、診断、予防などを中心とした医学全体が、革命的に変化するものと考えられる。さらに、これらの疾病のDNAレベルでの理解に基づいた治療法、すなわち病因遺伝子やその産物をターゲットとした医薬品の開発への期待も大きい。基礎研究を臨床研究に活かしていくための橋渡しの研究は、まだ途についたばかりである。現在、用いられている抗癌剤は、スクリーニングによって選択された抗生物質が多く、もともと癌細胞を殺すために微生物が産生したものではなく、癌の分子生物学的知見に基づいたものはほとんどない。細胞内の特定遺伝子の発現を細胞外から自由自在にコントロールすることが可能になれば、究極の遺伝子レベルでの治療法となると考えられる。

本発明者らは、最近、抗生物質デュオカルマイシンがディスタマイシンなどの他種分子とヘテロダイマーを形成し協同的にDNAの分子認識を行ない、デュオカルマイシン単独の場合とは異なる塩基配列を効率よくアルキル化することを発見した(Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93,14405,1996)。この結果をもとにデュオカルマイシンのアルキル化部分にDNA認識部位としてピロールイミダゾールポ

リアミドを結合させ、任意の塩基配列でDNAを選択的にアルキル化する分子の合成に成功し、特許出願をした（特願平10-260710号）。

しかし、デュオカルマイシンのアルキル化部分にDNA認識部位としてピロールイミダゾールポリアミドを結合させだけの化合物ではアルキル化能が十分なだけではなく、これらの化合物は1本鎖の塩基配列しか認識できないものであった。そこで、本発明者らは、これらの化合物の分子動力学などのコンピュータモデリングを用いてこれらの分子とDNAとのアルキル化を詳細に検討し、デュオカルマイシンの反応性のあるシクロプロパン部分（セグメントA）にビニル基などのリンカーを導入することにより、2本鎖DNAを同時にアルキル化し切断することを見出した（特願平11-83591号）。

これらの天然のDNAやRNAの塩基配列を認識する人工の化学種は、天然のDNAやRNAの特定の塩基配列に認識して当該特定の位置においてセグメントAの作用をDNAやRNAに及ぼすものであることから、本発明者らは天然のDNAやRNAの部分配列に代えてこれらの人工の化学種を応用することができることを見出した。

発明の開示

本発明は、これらの人工の化学種を用いて細胞などのDNA又はRNAを含有する物質に対するセグメントA（化学種A）の作用をスクリーニングする方法を提供するものである。

本発明は、一般式（I）



（式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。）

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種を用いて、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定する方法に関する。

より詳細には、本発明は、多数のウェルを有するプレート中の各ウェルにDN

A又はRNAの塩基配列を認識することができる一般式(I)で表される化合物を存在させ、当該プレートの各ウェルにDNA又はRNAを含有する物質を導入し、一般式(I)で表される化合物とDNA又はRNAを含有する物質とを十分に作用させた後、DNA又はRNAを含有する物質の状態を測定することからなるDNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定する方法に関する。

さらに詳細には、本発明は、前記の方法において、各ウェルに存在させる一般式(I)で表される化合物が、DNA又はRNAを含有する物質のDNA又はRNAの異なる塩基配列を認識することができるものであり、各ウェルに導入されるDNA又はRNAを含有する物質が同じ物質である前記した方法に関する。

また、本発明は、前記した方法において、各ウェルに存在させる一般式(I)で表される化合物が、DNA又はRNAを含有する物質のDNA又はRNAの特定の1種類の塩基配列を認識することができるものであり、各ウェルに導入されるDNA又はRNAを含有する物質が異なる物質である前記した方法に関する。

また、本発明は、前記した各種の方法を行うための、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定用のキットに関する。

より詳細には、本発明は、一般式(I)



(式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。)

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種、及び作用後のDNA又はRNAを含有する物質の状態を測定する手段のための器具又は試薬からなる、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定するためのキットに関する。

さらに、本発明は、複数のウェルを有するプレート中の各ウェルに、一般式(I)、



(式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有す

る化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。)

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種が存在してなる複数のウェルを有するプレートに関し、当該プレートがDNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定するためのものであるプレートに関する。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明のImPyLDu86とDNAとの反応の結果を示した、図面に代わる写真である。

第2図は、第1図の実験に使用したDNAの塩基配列及びImPyLDu86の化学構造を示したものである。

第3図は、本発明のプレートを用いた癌細胞に特異的な抗癌剤をスクリーニングする方法を例示したものである。

第4図は、本発明の化合物1～16の100nMの濃度における癌細胞の生存率を示したものである。

第5図は、本発明のプレートを用いて、本発明の化合物を単独で使用した場合とこれらを混合して使用した場合を同時に試験する方法を例示したものである。

発明を実施するための最良の形態

本発明の前記一般式(I)における、DNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造であるBは、置換基を有してもよいピロール及び／又はイミダゾールから誘導される化学構造が好ましい。ピロールやイミダゾールの置換基としては、DNAの塩基配列を認識する妨げとならないものであれば特に制限はなく、例えば、炭素数1～10、好ましくは1～5の直鎖又は分枝状のアルキル基、前記したアルキル基から誘導されるアルコキシ基、水酸基、アミノ基、前記したアルキル基から誘導されるN-アルキル置換アミノ基、有機カルボン酸から誘導されるN-アシルアミノ基、グアニジノ基、置換グアニジノ基などが挙げられる。例えば、N-メチルピロール、N-メチルイミダゾール、3-ヒドロキシピロール、N-メチル-3-ヒドロキシピロールなどが挙げられ

る。

これらの天然の塩基配列を認識し得る非天然型の塩基は、主鎖上又は主鎖に懸垂されていてもよい。これらの非天然型の塩基が主鎖上に存在する場合には、これらの非天然型の塩基自体が主鎖を形成するための官能基を有しており、例えば非天然型の塩基の一端にカルボキシル基を有し、他端にアミノ基を有し、これらがポリアミド構造を形成するようにすればよい。主鎖を形成する構造は、前記ポリアミド構造に限定されるものではなく、ポリエステル構造やポリイミン構造などの重合体を形成し得るものであってもよい。

また、主鎖に懸垂される場合には、天然のDNAやRNAのように多糖類の構造に懸垂されていてもよいし、合成の重合体の構造に懸垂されていてもよい。

好ましいDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造であるBとしては、より具体的にはピロール-イミダゾールポリアミド結合が好ましい。ピロールやイミダゾールの長さ（個数）は特に制限はないが、好ましくは2～30個、より好ましくは24～16個、さらに好ましくは4～16個程度である。

DNAの塩基の一種に結合し得る化学構造部分であるAとしては、DNAやRNAと相互作用をするものであれば種々の化学種を使用することができる。好ましい化学種A（セグメントA）の構造としては、抗癌作用を有する化学物質の構造が挙げられる。抗癌作用を有する化学物質としては、DNAに作用するアルキル化剤が好ましい。より好ましくは、シクロプロパン環を有する化学構造が挙げられ、デュオカルマイシンのアルキル化部分がより好ましい。

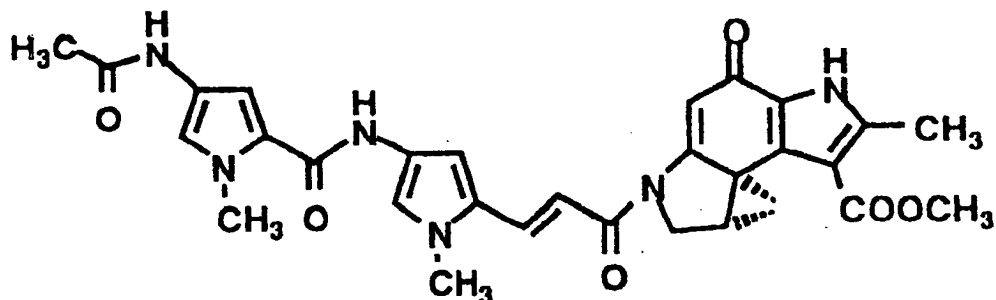
A及びBの化学構造を結合させ得るリンカー部分Lとしては、セグメントAとセグメントBとを適当な距離で隔てることができ、かつ、アルキル化活性を失活させないものが好ましい。好ましい具体例としてはビニル基を含有する化学構造が挙げられる。

これらの一般式（I）で表される化合物はこれを単独で使用することもできるが、これらの2種以上を混合して使用することもできる。2種以上の一般式

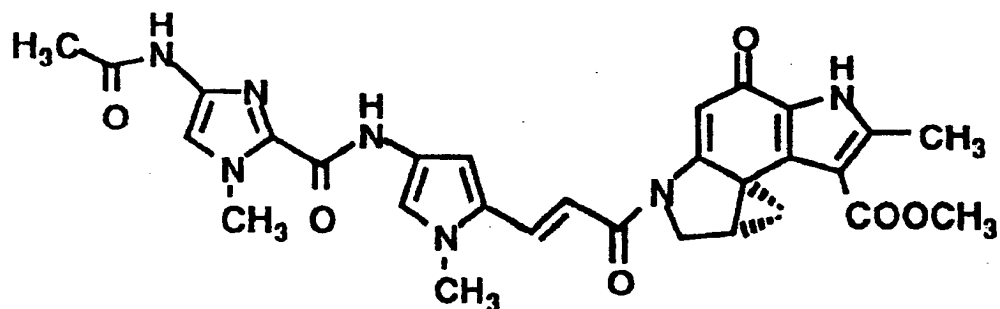
（I）であらわされる化合物を混合して使用する場合には、種々の混合パターンがあるが、一般的には化学種B（セグメントB）の異なる化学種を混合するのが

好ましいが、これに限定されるものではない。

一般式 (I) で表される本発明の化合物の好ましいものとしては、次式



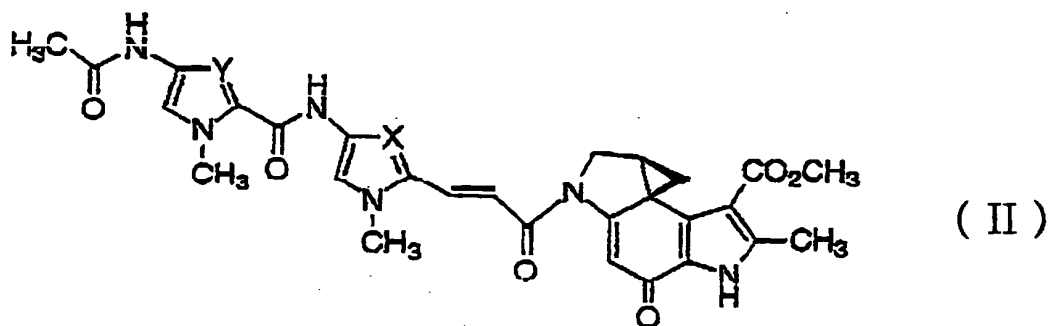
で表される化合物（以下、「PyPyLDu86」という。）、又は



で表される化合物（以下、「ImPyLDu86」という。）が挙げられる。

前記した化合物は、塩基配列TGACGをはじめとするImPyLDU86に対応する配列群、又はそれらの相補鎖を認識する。

さらに、次式のPyPyLDu86を基本構造とする{Py又はIm}{Py又はIm}LDu86の構造を有する一般式(II)、



(式中、X及びYはそれぞれ独立して $-CH=$ 又は $-N=$ を示す。)
で表される化合物やこれらの1:1混合物が挙げられる。

以下の説明のためにこれらの化合物又はこれらの混合物に次のように番号を付ける。

XがCHで、YがCHの場合の化合物を、化合物1とし、

XがCHで、YがNの場合の化合物を、化合物2とし、

XがNで、YがCHの場合の化合物を、化合物3とし、

XがNで、YがNの場合の化合物を、化合物4とし、

化合物1と化合物2の1:1の混合物を、化合物5とし、

化合物1と化合物3の1:1の混合物を、化合物6とし、

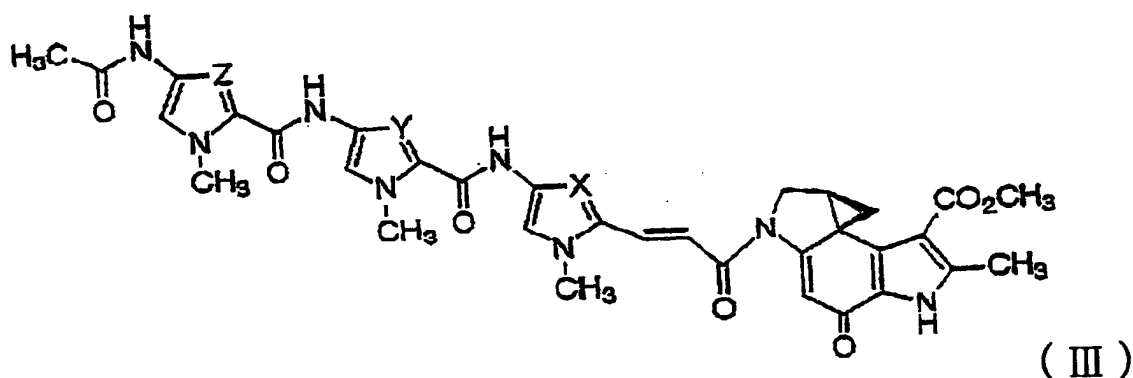
化合物1と化合物4の1:1の混合物を、化合物7とし、

化合物2と化合物3の1:1の混合物を、化合物8とし、

化合物2と化合物4の1:1の混合物を、化合物9とし、

化合物3と化合物4の1:1の混合物を、化合物10とする。

また、次式のPyPyPyLDu86を基本構造とする{Py又はIm}{Py又はIm}{Py又はIm}LDu86の構造を有する一般式(III)、



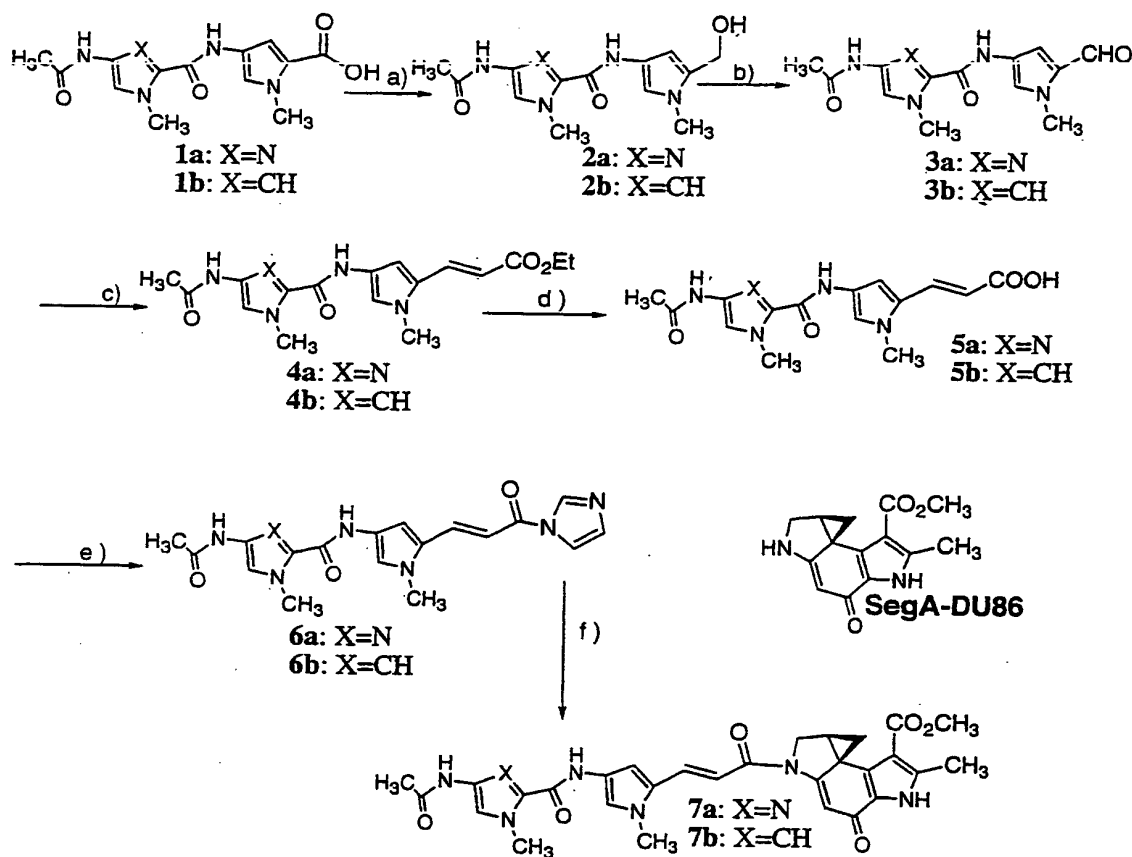
(式中、X、Y及びZはそれぞれ独立して $-CH=$ 又は $-N=$ を示す。)
で表される化合物やこれらの1 : 1混合物が挙げられる。

以下の説明のためにこれらの化合物又はこれらの混合物に次のように番号を付ける。

XがCHで、YがNで、ZがNの場合の化合物を、化合物11とし、
XがCHで、YがNで、ZがCHの場合の化合物を、化合物12とし、
XがCHで、YがCHで、ZがCHの場合の化合物を、化合物13とし、
化合物11と化合物12の1 : 1の混合物を、化合物14とし、
化合物11と化合物13の1 : 1の混合物を、化合物15とし、
化合物12と化合物13の1 : 1の混合物を、化合物16とする。
これらの化合物1～16について後述する試験を行った。

本発明の一般式(I)で表される化合物は、公知の方法に準じて製造することができる。即ち、Aセグメント及びBセグメントを常法により製造し、これに順次リンカーセグメントLを結合させ、次いで残りのセグメントを結合させることにより製造することができる。

例えば、前記のImPyLDu86(7a)及びPyPyLDu86(7b)の製造例を次の化学反応式で示す。反応式中の各化合物の下に数字は化合物の番号を示す。



反応式中の a) はベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス (ジメチルアミノ) ホスホニウム ヘキサフルオロホスフェート (BOP) の THF 溶液中での処理、次いで NaBH_4 処理を示し、b) は THF 中での MnO_2 処理を示し、c) は THF 中でのトリエチルホスホノアセテート及び NaH 処理を示し、d) は水-メタノール中での水酸化ナトリウムによる処理を示し、e) は DMF 中での 1,1-カルボニルジイミダゾールでの処理を示し、f) は DMF 中での水素化ナトリウムを用いた DU86 のセグメント A との処理を示す。

こうして合成された PyPyLDu86 および、ImPyLDu86 の DNA との反応性を調べた。ImPyLDu86 によるアルキル化の結果を第 1 図に示した。この実験に用いた DNA 及び使用した ImPyLDu86 を第 2 図に示す。

第1図において、左側の泳動図は2本鎖DNAの上のストランドの結果、右側の泳動図は下のストランドの結果である。アルキル化の位置は加熱により切断バンドとしてみるができる。その結果、低濃度から主に2本鎖DNAはサイト1とサイト2で2本鎖の切断されていることがわかり、アルキル化が2本鎖で同時に起っていることが判断できる。このような切断を引き起こす化合物はこれまでに例がなく、まさに人工の制限酵素とすることができる。また用いたImPyLDu86の量から70%の高率で切断が起っていることが判明し、以前に合成した分子(特願平10-260710号参照)にくらべて非常に高い効率であることがわかる。

DNA又はRNAを含有する物質としては、DNAやRNAそれ自体を使用することもできるが、生きている細胞を使用するのが好ましい。セグメントAとして抗癌剤を用いる場合には癌細胞を使用することができる。

一般式(I)におけるセグメントBにおいて、非天然型の塩基としてメチルピロール(Py)及びメチルイミダゾール(Im)を使用する場合には、Py-ImによりC-G塩基対が、Im-PyによりG-C塩基対が、Py-PyによりA-TまたはT-A塩基対が認識されることが知られているから、メチルピロール(Py)及びメチルイミダゾール(Im)を適宜組み合わせることにより、目的の塩基配列を認識させることができる。即ち、メチルピロール(Py)及びメチルイミダゾール(Im)を、3個(3量体)用いることにより天然の3塩基の配列を認識することができ、4個(4量体)用いることにより天然の4塩基の配列を認識することができる。

また、これらのセグメントBの配列を有する化合物の2種以上混合して使用することもできる。

本発明の方法は、一般式(I)で表される化合物とDNA又はRNAを含有する物質とを十分に作用させた後、DNA又はRNAを含有する物質の状態を測定することにより、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定することができる。

一般式(I)で表される化合物とDNA又はRNAを含有する物質とを十分に作用させる手段としては、両者を適当な緩衝液中でインキュベーションするなど

の方法により行うことができる。また、インキュベーションの後の、DNA又はRNAを含有する物質の状態を測定する手段としては、各種の標識化や着色法などの手段により行うことができる。インキュベーションの後の、DNA又はRNAを含有する物質の状態に応じて適宜その手段を選択することができる。

DNA又はRNAを含有する物質として生きている細胞を用い、その生死によって判定する場合には、細胞を着色する方法が簡便で好ましい。市販のセルカウンティングキットを、又はこれと着色における吸光度とを併用することにより生存細胞を定量化することもできる。

次に本発明の具体的な使用例について説明する。

第3図は本発明の方法を例示したものである。第3図の左側にマス目のように示されているのは、複数のウェルを有するプレートであり、各マス目が各ウェルを示している。この例では96穴のプレートが示されている。この各ウェルに本発明の前記一般式(I)で表される化学種を存在させておく。各ウェルに異なる塩基配列を認識する本発明の一般式(I)で表される化学種を存在させておく場合についてまず説明する。

例えば、4量体では、一般式(I)で表される化学種のセグメントBの部分に、メチルピロール(Py)及びメチルイミダゾール(Im)からなる非天然型の塩基を用いて、Py-Py-Py-Py、Py-Py-Py-Im、Py-Py-Im-Py、Im-Im-Im-PyなどのPyとImからなるすべての順列組み合わせの構造(この例では16通りになる)を用いて異なる3塩基を認識し得るものができる。一般式(I)のセグメントAの部分にアルキル化剤を結合させて、ビニル基を含むリンカーLで結合させる。

そして、このセグメントBの部分が異なる16種類の化学種を第3図の左側にしめされるプレートの各ウェルに入れる。次いで、各ウェルに癌細胞を入れ、数時間～数日間これをインキュベートさせると、癌細胞の特定の塩基配列部分を認識した本発明の一般式(I)で表される化学種は癌細胞のDNAと反応してこれをアルキル化して癌細胞を殺すことになる。その結果を示したのが第3図の右側である。第3図の右側は、前記のインキュベートが終了した後、各ウェルを着色し、細胞が生きている場合は着色剤により着色されて第3図では黒く示されてい

るが、細胞が死んで着色剤により着色されない場合には第3図では白く示されている。第3図の例ではセグメントBとして8量体を使用した例であり、3種の非天然型の塩基の配列において癌細胞が死滅したことが示されている。各ウェルに存在させた非天然型の塩基の配列は予め判っているから、この試験によりどの配列の場合に癌細胞が死滅したかを知ることができる。

第3図の例では、8量体が使用されており、2の8乗、即ち256通りのセグメントB部分を有する一般式(I)で表される化学種が各ウェルに存在させられており、この例ではこのうち3種類の配列のものが特異的に癌細胞を死滅させていることがわかる。この3種の配列はこの例では、

P y I m P y P y P y I m P y P y、

P y I m P y P y P y I m I m P y、及び、

I m I m P y P y P y I m P y P y、

であることがわかる。

癌細胞は、その種類や生物に応じて異なっており、本発明の前記に示した方法によれば、測定された検体としての癌細胞に特異的に作用する抗癌剤を、短時間で、簡便に検索することができる。また、癌細胞は同じ組織の癌細胞であっても時期に応じて変異する場合があります、このような場合においても変異した癌細胞に特異的な抗癌剤を本発明の方法により簡便に検索することができる。さらに、本発明の前記方法によれば、癌組織の周囲の正常細胞に対する抗癌剤の作用をも同様な方法で調べることができる。

したがって、本発明の方法は、正常細胞には影響を与えず、目的の癌細胞に特異的に作用する抗癌剤を短時間で、簡便に検索することができる方法を提供するものである。

次に前記した化合物1～16についてその活性を評価した。

ピロール(Py)、イミダゾール(Im)アミド部が合計2つ或いは3つで構成されている化合物群を用いて細胞毒性試験を行った。前記の化合物1～16の16種類を用い、その効果を細胞の生存率で示した結果を第4図に示す。ヒト癌細胞LCL-wt、HLC-2、ヒト白血病細胞Jurkat、を用いて一斉スクリーニングを行った場合、LCL-wtに対してのみ化合物14が高い細胞毒

性を示し、JurkatとHLC-2に対しては有用な結果が示されなかった。

第4図は、100nMの濃度におけるLCL-wtとJurkatに対する化合物群1～16の細胞毒性の試験結果を示したものである。

このように、本発明の一般式(I)で示される化合物の2種以上の混合物も特異的な活性を示すことが明らかになり、このような混合物に対する試験方法の例を第5図に示す。第5図は、 $8 \times 8 = 64$ ウェルを用いた試験を示す。

セグメントBの部分が3個の認識部位になる場合を例示しており、認識コンポーネントとしてピロール系(Py)とイミダゾール系(Im)を用いた場合には2の3乗種類、即ち8種類の組み合わせが考えられる。この8種を縦横各々25 μ lづつ各ウェルに入れる。例えば、プレートの1行目と1列目に各々25 μ lのPy-Py-Pyを入れ、次いでプレートの2行目と2列目に各々25 μ lのPy-Im-Pyを入れ、さらにプレートの3行目と3列目に各々25 μ lのPy-Py-Imを入れるというように、8種の化合物を各々の行及び列に入れていくことにより、プレートの対角線上の部分のウェルは1種類の化合物のみとなるが、対角線の部分以外のウェルには各々異なる2種類の化合物からなる1:1の混合物が入れられたことになる。そして、第3図に示した方法と同様にして癌細胞とインキュベーションした後、これを着色処理した結果が第5図に例示されている。

第5図の例では、3行3列目、2行6列目及び6行2列目、並びに4行8列目及び8行4列目で癌細胞の死滅が観察されている。これは、この癌細胞に対しては3行3列目これは対角線の部分のウェルであるから、即ちPy-Py-Imの配単独で癌細胞を死滅させていることがわかり、2行6列目及び6行2列目、並びに4行8列目及び8行4列目は各々対角線に対して対象の位置であり、前者ではPy-Im-PyとIm-Py-Imの1:1混合物であり、後者はPy-Im-PyとIm-Im-Imとの1:1混合物である。そしてこの例ではこの癌細胞に対してはこれらのセグメントBを有する化合物又は混合物が特異的に有効であることが示されている。

さらに、この試験例において重要なことは、一般式(I)の化合物の癌細胞に対する有効性がこの化合物を単独で使用する場合には示されないが、他の化合物

と混合して使用した場合に初めてその有効性が示される場合があることを明らかにしているということである。

このような本発明の試験方法により、一般式 (I) で表される化合物を単独で用いた場合の結果を得ると同時に、これらの化合物を混合して使用した場合の結果をも得ることができる。

以上の例は、癌細胞に特異的な抗癌剤を検索する方法であるが、特定の塩基配列の位置において有効性が知られている癌細胞をDNA又はRNAを含有する物質として使用し、当該塩基配列に対応した本発明の一般式 (I) のセグメントBの部分に有する化学種を調製し、そのセグメントAの部分に各種の抗癌剤の候補化合物を結合させた、セグメントAの部分異なる複数種の本発明の一般式

(I) で表される化学種を各ウェルに存在させ、これを前記の癌細胞とインキュベートさせることにより、セグメントAの部分の抗癌剤の候補化合物の作用を検索することができる。

即ち、本発明のひとつの実施形態としては、本発明の一般式 (I) のセグメントAの部分に抗癌剤の候補化合物を結合させることにより、癌細胞に対する抗癌作用をスクリーニングする方法を提供するものである。

また、本発明は、前記してきた各種の本発明の方法を行うための、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定用のキットを提供するものである。

より詳細には、一般式 (I)



(式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。)

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種、及び作用後のDNA又はRNAを含有する物質の状態を測定する手段のための器具又は試薬からなるDNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定用のキットを提供する。前述したように、本発明の一般式 (I) の化合物はこれを単独で使用してもよいが、この2種以上を混合して使用できるようにしておいてもよい。

さらに、本発明は、複数のウェルを有するプレート中の各ウェルに、一般式 (I)、



(式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。)

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種が存在してなる複数のウェルを有するプレートを提供するものである。より詳細には、本発明のプレートは、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定するためのプレートである。

前記の一般式 (I) で表される化合物は、この1種又は2種以上をプレートの各ウェルに固定化しておくこともできる。また、溶液又はゲル状にしておくこともできる。

次に、具体的な試験例により本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの具体例に限定されるものではない。

実施例

実施例 1 (細胞毒性試験による制癌効果の評価)

腫瘍細胞として、ヒト癌細胞 LCL-wt と HLC-2、ヒト白血病細胞、Jurkat、ヒト子宮けい癌細胞 HeLa cell を用いた。LCL-wt と Jurkat に対しては PRMI 1640 (Gibco BRL) + 10% 牛胎児血清 (JRH BIOCIENCES) + 100 μ U/ml ペニシリン G - 100 μ U/ml ストレプトマイシン硫酸塩 (Gibco BRL) を培養培地として用いた。HLC-2 に対しては MEM + 10% 牛胎児血清 (JRH BIOCIENCES) + 100 μ U/ml ペニシリン G - 100 μ U/ml ストレプトマイシン硫酸塩 (Gibco BRL) を培養培地として用いた。ヘラ細胞 (HeLa cell) に対しては RBMI + 10% 牛胎児血清 (JRH B

I O C I E N C E S) + 1 0 0 μ U / m l ペニシリン G - 1 0 0 μ U / m l ストレプトマイシン硫酸塩 (G i b c o B R L) を培養培地として用いた。それぞれの細胞は培養し、対数増殖期にあるものを分散してスクリーニングに用いた。

スクリーニングは、初期細胞数を約 2×10^5 c e l l s / m l に調整した細胞懸濁液を 9 6 ウェルのマルチプレートに 5 0 μ l / ウェルずつ分注し、試験化合物の試験溶液 (1 0 0 μ M、培地 + 0. 1 % D M S O) を添加し、3 7 $^{\circ}$ C、C O₂ 濃度 5 % の条件下、インキュベーターで 2 日間前培養を行い、その後細胞数をカウントした。

細胞数は、マイクロプレートリーダー (Micro Plate Reader) (M P R - A 4 i、T O S O H) と血球計算板を用いて計算した。マイクロプレートリーダーを用いた測定においては、セルカウティングキット 8 (Cell Counting Kit-8) (D O J I N D O) を用い、測定波長 4 5 0 n m (参照波長 6 0 0 n m) で吸光度を測定した。生細胞数、死細胞数のカウントはトリパンブルーを用いた色素排除法により顕微鏡下で行った。マイクロプレートリーダーと血球計算板での測定結果を元に生存率を以下の式により算出した。

$$\text{生存率} = 100 n_p / n_a$$

ここで、 n_p は試料を添加した場合の生細胞数、 n_a はコントロール生細胞数である。

実施例 2 (細胞毒性試験)

本文中に記載した化合物 1 ~ 1 6 を用いて、本発明のプレートによりヒト癌細胞 L C L - w t、H L C - 2、ヒト白血病細胞 J u r k a t、を用いて一斉スクリーニングを行った。

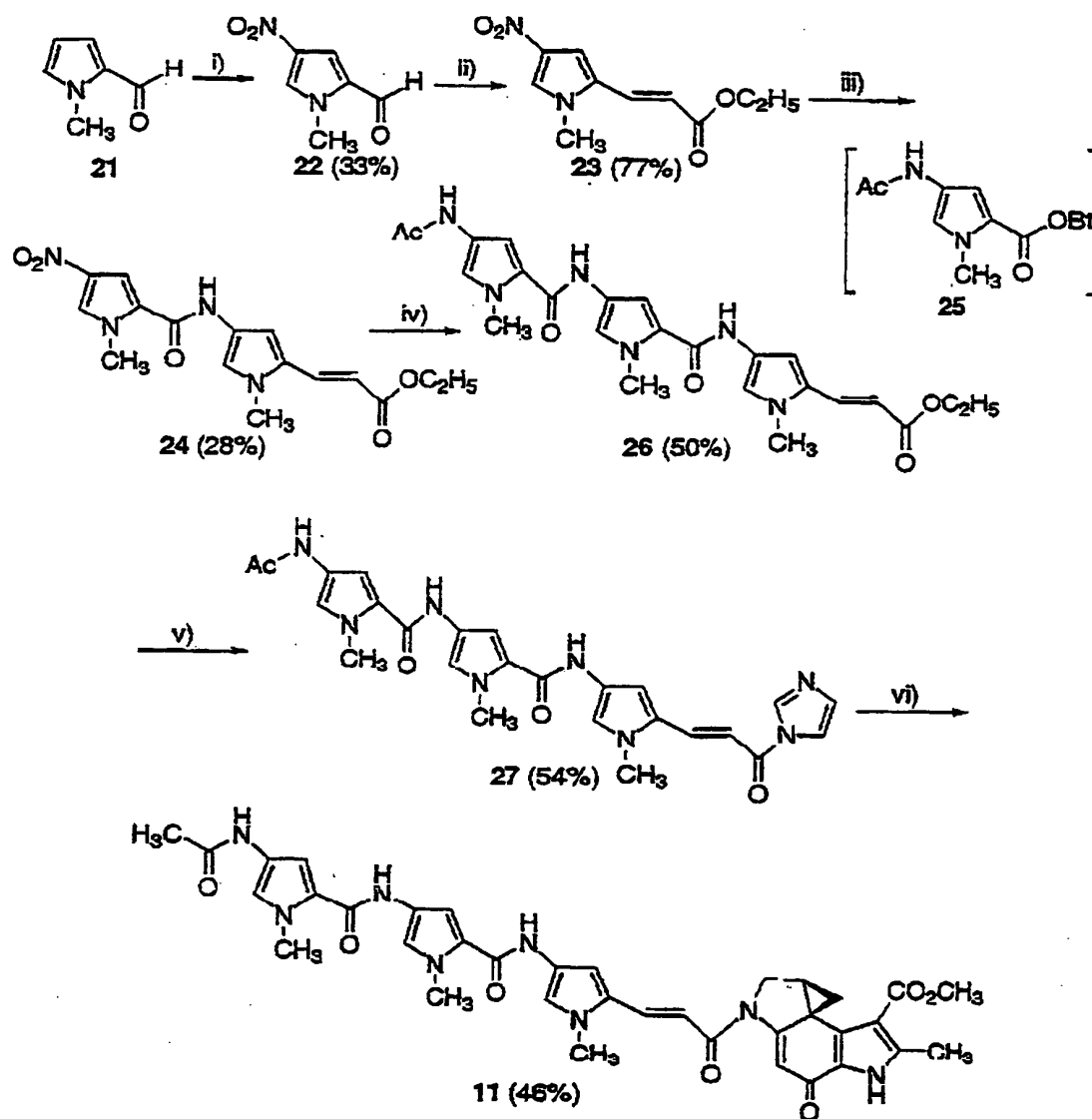
その結果を実施例 1 と同様に行って、各細胞の生存率を計算した。

第 4 図に試験化合物の濃度が 1 0 0 n M の場合の結果を示す。

この結果によれば、L C L - w t に対してのみ化合物 1 4 が高い細胞毒性を示すことがわかった。

実施例 3 (化合物の合成)

化合物 13 の合成方法を次に示した。



反応及び精製に用いた試薬、溶媒は市販のものを用いた。プロトン核磁気共鳴スペクトル (NMR) は日本電子 JNM-A500 を使用し、テトラメチルシラン (TMS) を内部標準物質として化学シフトは δ 値 (ppm) で示した。シグナルの略号として、s (singlet)、d (doublet)、t (triplet)、q (quartet)、m (multiplet)、br (broad)、br s (broad singlet) を用いた。試薬、溶媒の略号

は以下のように用いた。ジメチルホルムアミド (DMF)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、カルボニルジイミダゾール e (CDI)、4-(ジメチル)アミノピリジン (DMAP)、N-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt)、1-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDCI)、テトラヒドロフラン (THF)。反応は特に示さない限り、アルゴン雰囲気下或いは窒素雰囲気下で行った。

(1) 1-メチル-4-ニトロ-ピロール-2-アルデヒド (22)

発煙硝酸 (1.5 ml、37.5 mmol) の無水酢酸 (25 ml) 溶液を -30℃ に冷却し、同温下 1-メチルピロール-2-カルボキシアリデヒド 21 (3.27 g、30.0 mmol) の無水酢酸 (10 ml) 溶液を滴下し、同温で 5 時間攪拌した。その後析出した固体をろ取し、ニトロ体 22 (860 mg、19%) を得た。ろ液の溶媒を減圧下留去し、得られた残留物をシルカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、ヘキサン-酢酸エチル (4:1、v/v) 溶出部より更に 22 (650 mg、14%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.00 (3H, s), 7.40 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$),
7.65 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 9.61 (1H, s);

IR (KBr) ν : 1678、1535、1508、1423、1406、
1311、1100、864、814、770、754 cm^{-1}

(2) Py-L-CO₂Et (23)

ホスホノ酢酸トリエチル (0.39 ml、2.0 mmol) の THF (15 ml) 溶液に氷冷下 60% 水素化ナトリウム (83 mg、2.1 mmol) を加え 10 分間攪拌した。同温下ニトロ体 22 (200 mg、1.3 mmol) の THF (5 ml) 溶液を滴下し、さらに 45 分同温で攪拌した。反応溶液中に水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、得られた残留物をシルカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、ヘキサン-酢酸エチル (1:4、v/v) 溶出部よりエステル 23 (225 mg、77%) を得た。

^1H NMR (CDCl_3) δ : 1.28 (3H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 3.75 (3H, s),
4.24 (2H, q, $J=7.5\text{Hz}$), 6.28 (1H, d, $J=16.0\text{Hz}$), 7.09 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$),
7.47 (1H, d, $J=16.0\text{Hz}$), 7.54 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$);

^{13}C NMR (CDCl_3) δ : 14.3, 35.4, 60.8, 106.1,
111.8, 125.3, 129.8, 130.1,
136.7, 166.5;

IR (KBr) ν : 1709, 1632, 1510, 1427, 1412,
1373, 1315, 1282, 1176 cm^{-1}

(3) Py-Py-L-CO₂Et (24)

エステル23 (1.12 g, 5.0 mmol) のメタノール溶液 (45 ml) に室温下10%パラジウム炭素 (250 mg) を加えた。この混合物に1N-水素化ホウ素ナトリウム (8 ml) を同温下に加え、さらに10分攪拌した。アセトン (2 ml) を加えた後、この懸濁液をセライトに通して沈殿物を除去した。ろ液の溶媒を減圧下留去し、得られた残留物に酢酸エチルを加えた。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、得られた残留物を塩化メチレン (45 ml) に溶解し、さらなる反応に用いた。この溶液に1-メチル-4-ニトロ-2-トリクロロアセチルピロール (2.35 g, 7.0 mmol) とN,N-ジイソプロピルエチルアミン (1.31 ml, 7.5 mmol) を順次室温で加え、同温下3時間攪拌した。その後、反応溶液中に水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、得られた残留物をシルカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、酢酸エチル溶出部よりビスピロール24 (483 mg, 28%) を得た。

^1H NMR ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}-d_6$) δ : 1.23 (3H, t, $J=7.0\text{Hz}$),
3.59 (3H, s), 3.94 (3H, s), 4.14 (2H, q, $J=7.0\text{Hz}$), 6.01 (1H, d, $J=15.5\text{Hz}$),
6.57 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 7.27 (1H, br s), 7.45 (1H, d, $J=15.5\text{Hz}$),
7.46 (1H, d, $J=1.5\text{Hz}$), 7.50 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 9.59 (1H, br s)

(4) Py-Py-Py-L-CO₂Et (26)

ビスピロール24 (173mg, 0.50mmol) のメタノール-酢酸エチル (10ml-10ml) の懸濁液に室温下10%パラジウム炭素 (50mg) を加えた。この混合物に1N水素化ホウ素ナトリウム (1.5ml) を同温下加え、さらに2分攪拌した。この懸濁液をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに通して沈殿物を除去した。溶媒を減圧下留去し、得られた残留物をDMF (10ml) に溶解しさらなる反応に用いた。この溶液に4-アセトアミノ-1-メチルピロール-2-カルボン酸のHOBtエステル25 (Z.-F. Tao, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 4961-4967 (1999)) (209mg, 0.70mmol) とDMAP (85mg, 0.70mmol) を順次室温で加え、同温下3時間攪拌した。その後、溶媒を減圧下留去し、得られた残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付した。メタノール-酢酸エチル (1:9, v/v) 溶出部よりトリスピロール26 (120mg, 50%) を得た。

¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.29(3H, t, J=7.0Hz), 2.06(3H, s),
3.59(3H, s), 3.81(3H, s), 3.84(3H, s), 4.20(2H, q, J=7.0Hz),
5.99(1H, d, J=15.5Hz), 6.51(1H, s), 6.58(1H, s), 6.61(1H, s),
6.94(1H, d, J=2.0Hz), 7.13(1H, s), 7.32(1H, d, J=2.0Hz),
7.47(1H, d, J=15.5Hz), 7.78(1H, s), 7.98(1H, s), 8.36(1H, s)

(5) Py-Py-Py-L-CO₂Im (27)

トリスピロール26 (24mg, 0.050mmol) のメタノール-THF (10ml-10ml) の溶液に室温下1N水酸化ナトリウム水溶液 (1.5) を加え室温で5時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、得られた残留物に10%酢酸水溶液を加え、生じた沈殿物をろ取し、加水分解体 (13.5mg) を得た。この加水分解体はさらなる精製を行わずに次の反応に用いた。加水分解体 (12.8mg) のDMF (1.5ml) 溶液にCDI (24.3mg, 0.15mmol) を室温で加え、同温下一晩攪拌した。その後水を加え、生じた沈殿物をろ取してイミダゾールエステル27 (13.5mg, 54%) を得た。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 1.96(3H, s), 3.77(3H, s), 3.82(3H, s),

3.85 (3H, s), 6.85 (1H, s), 7.08 (1H, s), 7.09 (1H, s),
 7.12 (1H, d, J=15.0Hz), 7.14 (1H, s), 7.22 (1H, s), 7.24 (1H, s),
 7.47 (1H, s), 7.87 (1H, d, J=15.0Hz), 7.90 (1H, s), 8.66 (1H, s),
 9.80 (1H, s), 9.89 (1H, s), 10.03 (1H, s)

(6) Py-Py-Py-L-DU86 (11)

DU86のA部28 (S.Nagamura, et al., J. Med. Chem., 40, 972-979 (1999)) (6.2 mg, 0.024 mmol) のDMF (2 ml) 溶液に氷冷下60%水素化ナトリウム (2.0 mg, 0.050 mmol) を加え、同温で10分攪拌した。その後、同温下イミダゾールエステル27 (12.9 mg, 0.026 mmol) のDMF (1 ml) 溶液を加え、同温でさらに5時間攪拌した。リン酸ナトリウムバッファー (pH 6.86) を加えた後、水を加え、塩化メチレンで抽出した。その後、溶媒を減圧下留去し、得られた残留物をシルカゲルカラムクロマトグラフィーに付した。メタノール-クロロホルム (1:9, v/v) 溶出部よりPy-Py-Py-L-DU86 11 (7.7 mg, 46%) を得た。

¹H NMR (DMSO-d₆) δ : 1.29-1.31 (1H, m), 1.97 (3H, s),
 2.07-2.11 (1H, m), 2.47 (3H, s), 3.72 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.82 (3H, s),
 3.83 (3H, s), 4.17-4.22 (1H, m), 4.27-4.32 (1H, m),
 6.57 (1H, d, J=15.0Hz), 6.83-6.85 (br s), 6.86 (1H, s), 6.90 (1H, s),
 7.06 (1H, s), 7.15 (1H, s), 7.24 (1H, s), 7.39 (1H, s),
 7.57 (1H, d, J=15.0Hz), 9.80 (1H, s), 9.89 (1H, s), 9.94 (1H, s),
 12.36 (1H, s)

産業上の利用可能性

本発明は、簡便な方法により特定の細胞に対して特異的に作用する物質を短時間でかつ高感度で、しかも安価な手段によりスクリーニングできる方法及びそのためのキット及びプレートを提供するものである。本発明の方法によれば、患者の細胞、例えば癌細胞に特異的に作用する薬物を短時間で簡便に知ることができ、

患者の癌細胞に応じたテイラーメイドの治療薬を創出することができ、患者に対してより副作用が少なく、かつ効力の大きな治療薬を提供することができる。

また、本発明の方法によれば、DNAやRNAに作用する物質を簡便に、高感度でかつ安価にスクリーニングすることができる。また、DNAやRNAに対する作用が既知の物質におけるDNAやRNAにおける作用部位を本発明の方法により簡便に知ることも可能となる。

請 求 の 範 囲

1. 一般式 (I)



(式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。)

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種を用いて、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定する方法。

2. 多数のウェルを有するプレート中の各ウェルにDNA又はRNAの塩基配列を認識することができる一般式(I)で表される化合物を存在させ、当該プレートの各ウェルにDNA又はRNAを含有する物質を導入し、一般式(I)で表される化合物とDNA又はRNAを含有する物質とを十分に作用させた後、DNA又はRNAを含有する物質の状態を測定することからなるDNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定する請求の範囲第1項に記載の方法。

3. 各ウェルに存在させる一般式(I)で表される化合物が、DNA又はRNAを含有する物質のDNA又はRNAの異なる塩基配列を認識することができるものであり、各ウェルに導入されるDNA又はRNAを含有する物質が同じ物質である請求の範囲第2項に記載の方法。

4. 各ウェルに存在させる一般式(I)で表される化合物が、DNA又はRNAを含有する物質のDNA又はRNAの特定の1種類の塩基配列を認識することができるものであり、各ウェルに導入されるDNA又はRNAを含有する物質が異なる物質である請求の範囲第2項に記載の方法。

5. ウェルに一般式(I)で表される化合物が固定化されている請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載の方法。

6. DNA又はRNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造が、DNA又はRNAを含有する物質の天然のDNA又はRNAの連続する少なくとも2塩基を認識するものである請求の範囲第1項～第5項の

いずれかに記載の方法。

7. DNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造が、置換基を有してもよいピロール及び／又はイミダゾールから誘導される化学構造である請求の範囲第1項～第6項のいずれかに記載の方法。

8. 置換基を有してもよいピロール及び／又はイミダゾールから誘導される化学構造が、主鎖上又は主鎖に懸垂されている請求の範囲第7項に記載の方法。

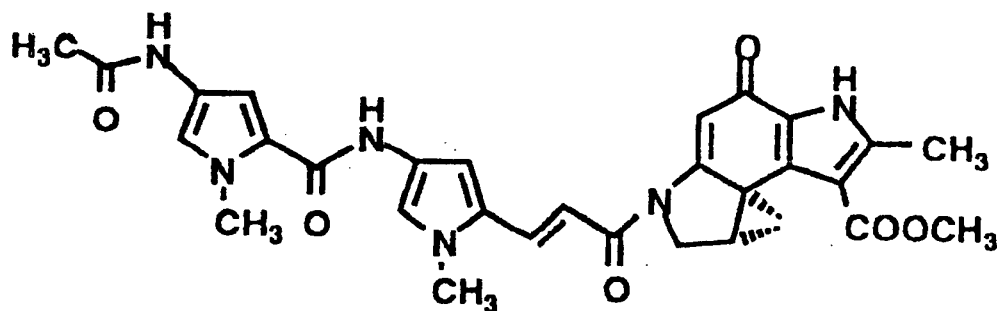
9. DNAとの相互作用を有する化学構造を有するAが、抗癌剤の化学構造である請求の範囲第1項～第8項のいずれかに記載の方法。

10. 抗癌剤が、アルキル化剤である請求の範囲第9項に記載の方法。

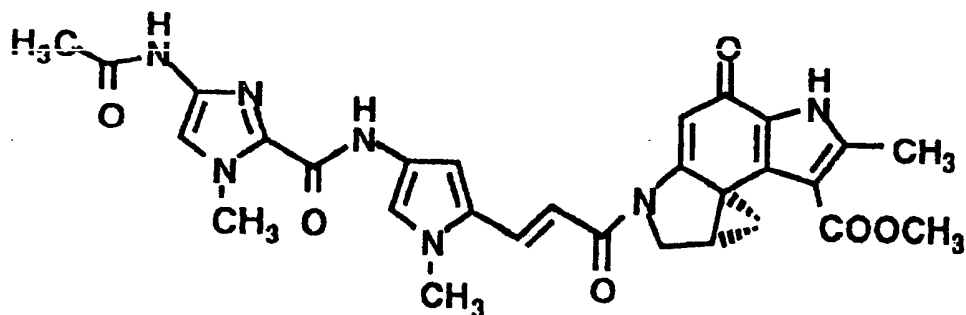
11. アルキル化剤が、シクロプロパン環を有する化学構造である請求の範囲第10項に記載の方法。

12. A及びBの化学構造を結合させ得るリンカーが、ビニル基を含有する化学構造である請求の範囲第1項～第11項のいずれかに記載の方法。

13. 一般式(I)で表される化合物が次式



又は



で表される化合物である請求の範囲第 7 項～第 12 項のいずれかに記載の方法。

14. DNA又はRNAを含有する物質が、細胞である請求の範囲第 1 項～第 13 項のいずれかに記載の方法。

15. 細胞が、癌細胞である請求の範囲第 14 項に記載の方法。

16. DNA又はRNAを含有する物質の状態を測定する手段が、物質の生死を判定する方法である請求の範囲第 2 項～第 15 項のいずれかに記載の方法。

17. 物質の生死を判定する方法が、物質の着色によるものである請求の範囲第 16 項に記載の方法。

18. 請求の範囲第 1 項～第 17 項のいずれかに記載の方法を行うための、DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種 A の作用を検出または同定用のキット。

19. 一般式 (I)



(式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。)

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種、及び作用後のDNA又はRNAを含有する物質の状態を測定する手段のための器具又は試薬からなる請求の範囲第 18 項に記載のキット。

20. 複数のウェルを有するプレート中の各ウェルに、一般式 (I)、

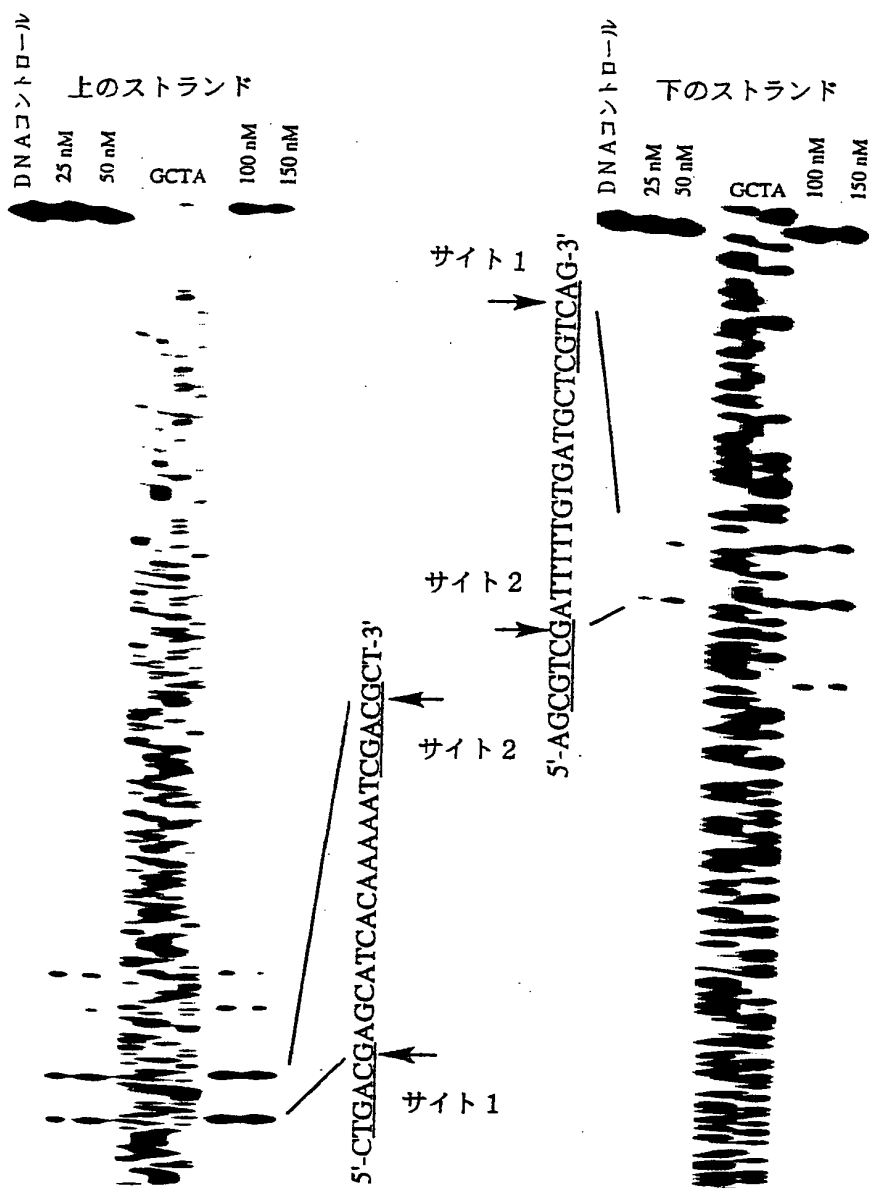
B - L - A (I)

(式中、BはDNAの塩基配列を認識することができる非天然型の塩基を含有する化学構造を示し、AはDNAとの相互作用を有する化学構造を示し、LはA及びBの化学構造を結合させ得るリンカーを示す。)

で表されるDNAの塩基配列を認識し得る化学種が存在してなる複数のウェルを有するプレート。

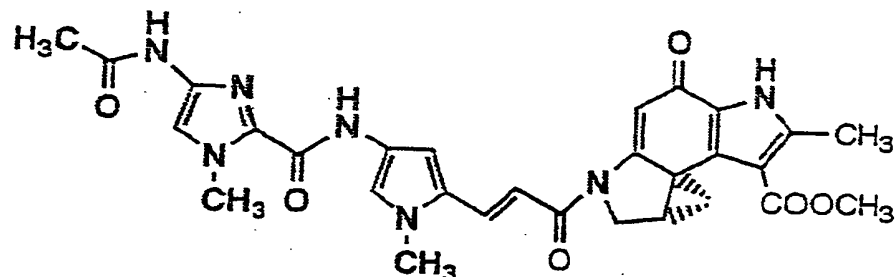
21. DNA又はRNAを含有する物質に対する化学種Aの作用を検出または同定するためのプレートである請求の範囲第20項に記載のプレート。

第 1 図





第 2 図



5'- AGAATCAGGG GATAACGCAG GAAAGAACAT GTGAGCAAAA GGCCAGCAAA
3'- TCTTAGTCCC CTATTGCGTC CTTTCTTGTA CACTCGTTTT CCGTCGTTT

AGGCCAGGAA CCGTAAAAAG GCCGCGTTGC TGGCGTTTTT CCATAGGCTC
TCCGGTCCTT GGCATTTTTTC CGGCGCAACG ACCGCAAAAA GGTATCCGAG

サイト1 ↓ サイト2 ↓
 CGCCCCCTG **AC**GAGCATCA CAAAAATCGA **CG**CTCAAGTC AGAGGTGGCG
 GCGGGGGGAC **TG**CTCGTAGT GTTTTTAGCT **GC**GAGTTCAG TCTCCACCGC

AAACCCGACA GGACTATAAA GATACCAGGC GTTTCCCCCT GGAAGCTCCC
TTTGGGCTGT CCTGATATTT CTATGGTCCG CAAAGGGGGA CCTTCGAGGG

TCGTGCGCTC TCCTGTTCCG ACCCTGCCGC TTACCGGATA CCTGTCCGCC
AGCACGCGAG AGGACAAGGC TGGGACGGCG AATGGCCTAT GGACAGGCGG

TTTCTCCCTT CGGGAAGCGT GGCGCTTTCT CAATGCTCAC GCTGTAGGTA
AAAGAGGGAA GCCCTTAGCA CCGCGAAAGA GTTACGAGTG CGACATCCAT

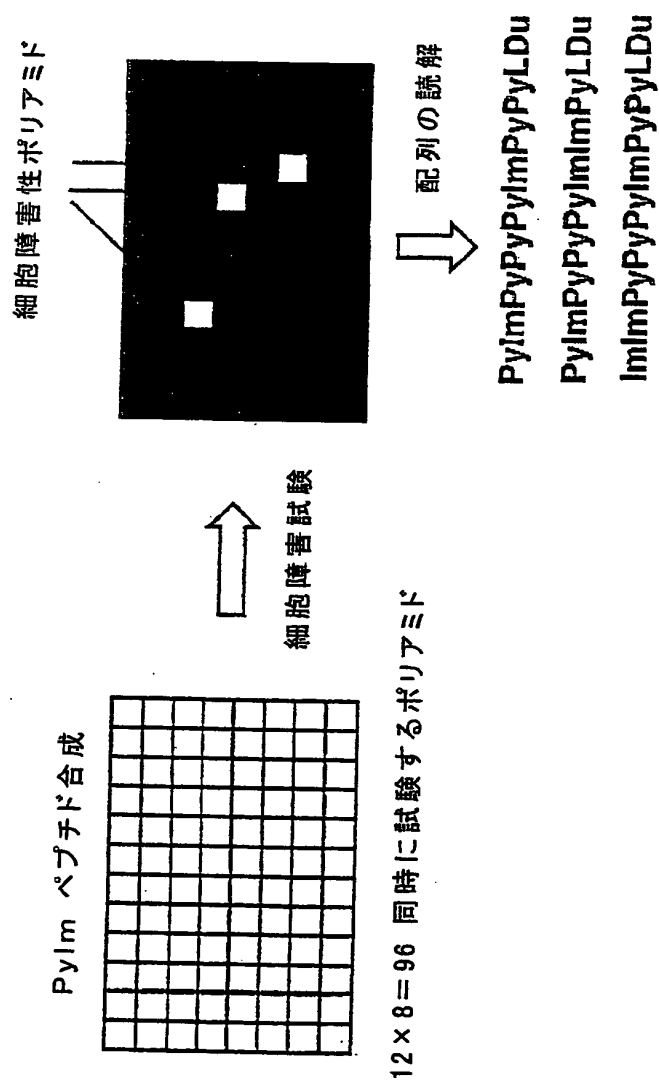
TCTCAGTTCG GTGTAGGTCG TTCGCTCAA GCTGGGCTGT GTGCACGAAC
AGACTCAAGC CACATCCAGC AAGCGAGGTT CGACCCGACA CACGTGCTTG

CCCCCGTTCA GCCCGACCGC TGCGCCTTAT CCGGTAACTA TCGTCTTGAG
GGGGGCAAGT CGGGCTGGCG ACGCGGAATA GGCCATTGAT AGCAGAACTC

TCCAACCCGG TAAGACACGA CTTATCGCCA CTGGCAGCAG CCACTGGTAA-3'
AGGTTGGGCC ATTCTGTGCT GAATAGCGGT GACCGTCGTC GGTGACCATT-5'



第 3 図





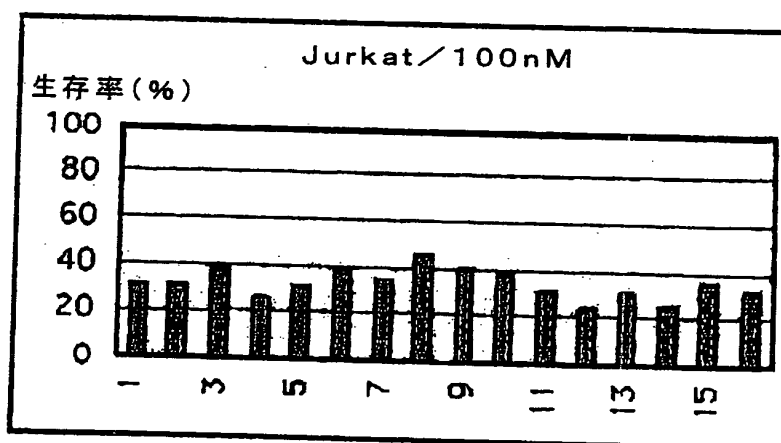
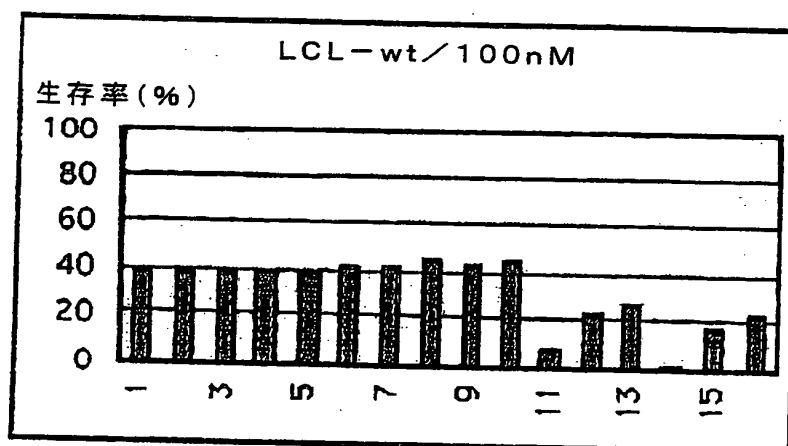
5

2

41

3

第 4 図





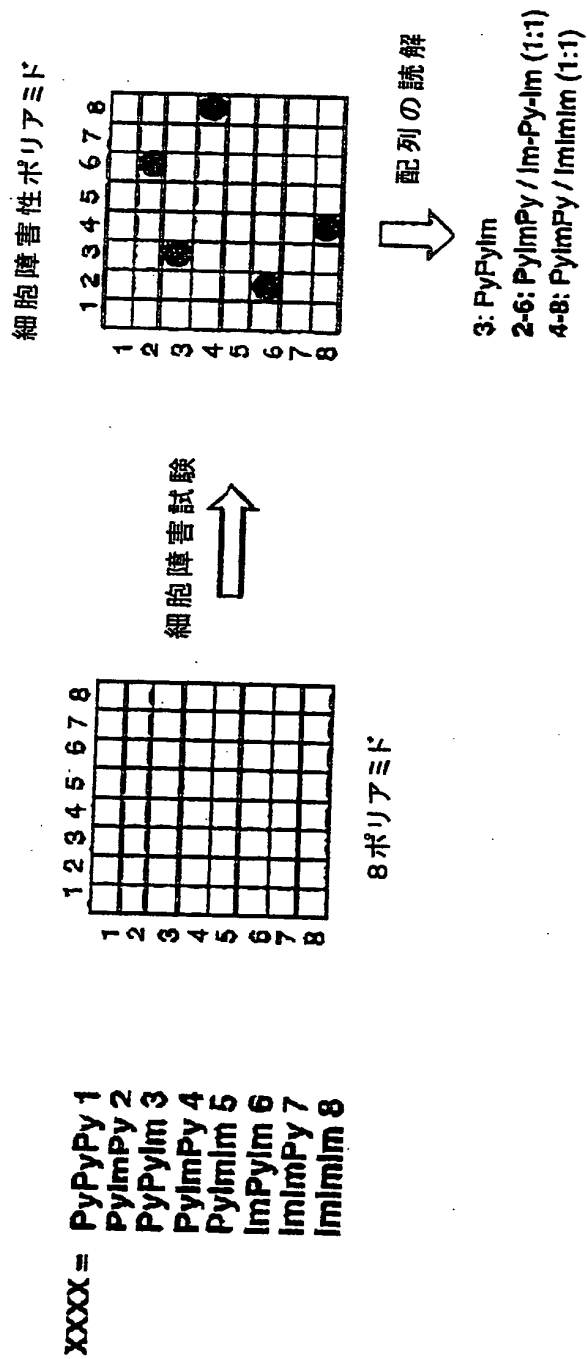
1

2

3

4

第 5 図





1

2

3

4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/07992

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12Q1/68, C12Q1/02, C12Q1/04, C12N15/09, G01N33/566, G01N33/53, G01N33/15//C07D487/04, A61K31/4178, A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12Q1/00-1/04, C12N15/00-15/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO, 2000/58312, A1 (KAGAKU GIJYUTSU SHINKO JIGYODAN), 05 October, 2000 (05.10.00) & JP, 2000-281679, A	1-21
A	The Chemical Society of Japan (CSJ) ed., "Lecture proceedings II of the 74 th Spring Annual Meeting, the Chemical Society of Japan (CSJ), " (14 March, 1998) 3G309	1-21

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
05 February, 2001 (05.02.01)

Date of mailing of the international search report
13 February, 2001 (13.02.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



•

.

3

•

.

2

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP00/07992

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1⁷ C12Q1/68, C12Q1/02, C12Q1/04, C12N15/09, G01N33/56
6, G01N33/53, G01N33/15//C07D487/04, A61K31/4178, A
61P35/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1⁷ C12Q1/00~1/04, C12N15/00~15/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)
REGISTRY (STN)
BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	WO, 2000/58312, A1 (KAGAKU GIJYUTSU SHINKO JIG YODAN) 05. 10月. 2000 (05. 10. 00) & JP, 2 000-281679, A	1-21
A	社団法人日本化学会発行「日本化学会第74春季年会講演予稿集I I」(1998年3月14日) 3G309	1-21

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05. 02. 01

国際調査報告の発送日

13.02.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 恵理子

印

4N

8114

電話番号 03-3581-1101 内線 3448



11

11